

イメージスプリッティング光学系

ダブルビュー

ジェミニ

W-VIEW GEMINI



技術資料

《2014年4月版》

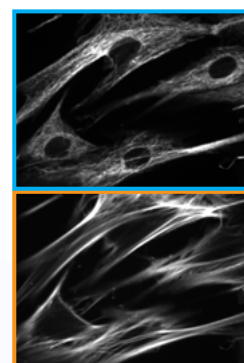
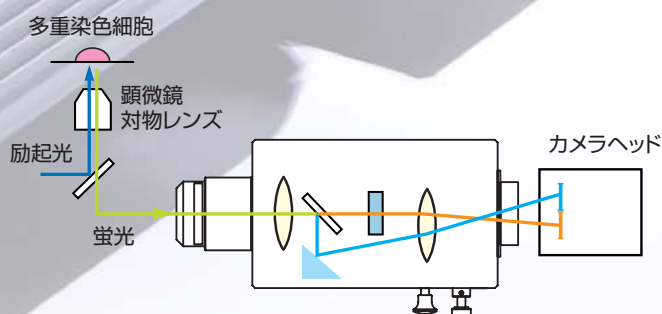
はじめに

W-VIEW GEMINIは、入射光を2波長に分光し、1台のカメラに結像させる顕微鏡用イメージスプリッティング光学系です。通常、2波長を同時イメージングするためには2台のカメラを必要としますが、このW-VIEW GEMINIとダイクロイックミラー、バンドパスフィルタをご用意いただくことで、1台のカメラで2波長同時イメージングが可能となります。また、2台のカメラを同期させる必要がなくその点においてもメリットがあります。

W-VIEW GEMINI イメージスプリッティング光学系は、特殊な光学機器であるため基本的な機能や性能を良く理解してお使いいただくことをお勧めします。



W-VIEW GEMINI 原理図



1 イメージスプリッティング光学系とは

1-1. W-VIEW光学系とは

1-2. 1台のカメラで2波長同時イメージング

2 W-VIEW GEMINIの特長

2-1. 広視野

2-2. 高透過率

2-3. 色収差補正機構

2-4. 市販ダイクロイックミラーが使用可能

2-5. 高バランス

2-6. コンパクトサイズ

2-7. 有効エリア

2-8. バイパスモード

2-9. 安定性

(1) 温度安定性

(2) 時間安定性

2-10. 外乱光の影響

3 ダイクロイックミラー等の特性

3-1. ダイクロイックミラーの特性

3-2. バンドパスフィルタの特性

3-3. NDフィルタの特性

4 調整ソフトウェア

5 用語の説明

6 本体仕様

7 システム構成例

8 外形寸法図

1 イメージスプリッティング光学系とは

1-1. W-VIEW光学系とは

W-VIEW光学系は、木下一彦先生（当時慶応大学）と弊社のメンバーで開発された光学機器です（Kinosita, et al. Dual-View Microscopy. The Journal of Cell Biology, Volume 115, 1991）。

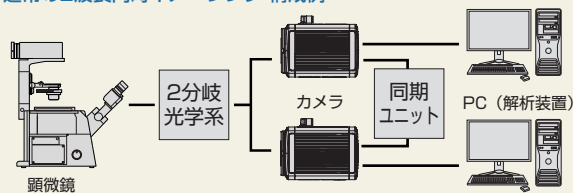
初代W-View光学系 A4313が販売開始されて以来、20年以上経過し、2世代目W-View光学系 A8509を経て、W-VIEW GEMINI A12801-01は、3世代目となります。W-VIEWシリーズは、色収差補正機構を備えていることを特長として長く販売され続けてきました。

1-2. 1台のカメラで2波長同時イメージング

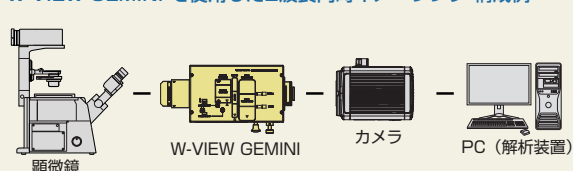
通常、2波長同時イメージングを行う場合には、2波長に分岐する光学系と2台のカメラが必要になります。さらに、2台のカメラのタイミングを合わせるパルスジェネレータやケーブルなどが必要になります。高速のカメラを使用する場合には、2台のPCが必要もあります。しかしW-VIEW GEMINIを使えば1台のカメラと1台のPCさえあれば、2波長同時イメージングが可能になり、大きなコスト的メリットを受けることができます。

W-VIEW GEMINIのメリット

通常の2波長同時イメージング 構成例



W-VIEW GEMINI を使用した2波長同時イメージング 構成例



低コスト

- ・ 2台のカメラ、2台のPC不要
- ・ 2分岐光学系不要
- ・ 同期ユニット不要

簡単操作

- ・ カメラの同期不要
- ・ PC間のデータ移動不要
- ・ 位置合わせが簡単

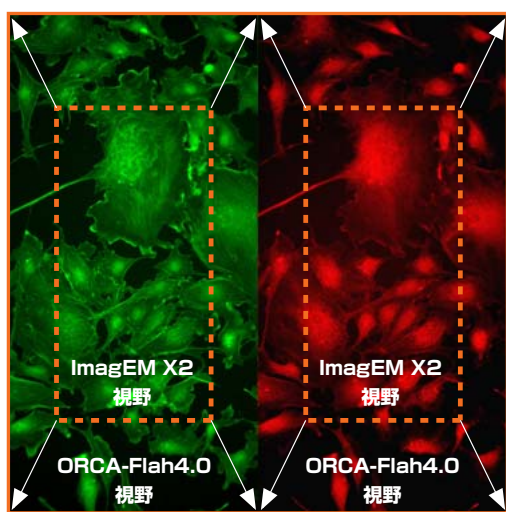
設置安定性

- ・ バランスが良く安定性が良い
- ・ 正立顕微鏡でも使用可能
- ・ 設置スペースを取らない

2 W-VIEW GEMINIの特長

2-1. 広視野

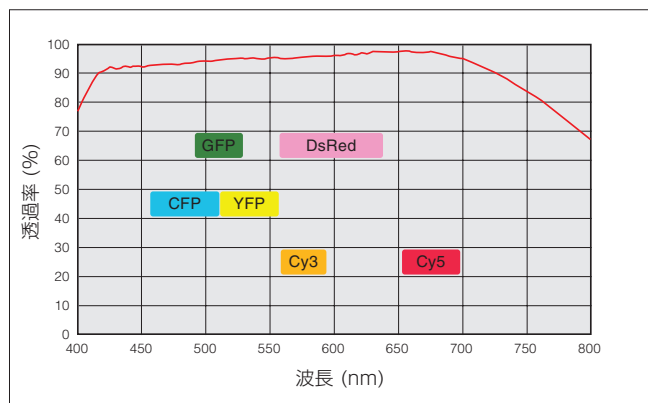
W-VIEW GEMINIの有効視野は、13 mm×13mmになります。これにより、第2世代 sCMOSカメラ ORCA-Flash4.0と組み合わせることで、片波長において13 mm×6.4 mmの広視野かつ約2000画素×約1000画素の高画素数のイメージングが可能になります。写真の実線はW-VIEW GEMINIとORCA-Flash4.0との組み合わせを、点線はEM-CCDカメラ ImagEM X2 (512画素×512画素) との組み合わせにおけるイメージング可能な範囲を示します。従来からEM-CCDカメラとの組み合わせでは、画素数が少な過ぎて使いにくいという点がありましたが、ORCA-Flash4.0との組み合わせることで十分に広い視野と十分な画素数でのイメージングが可能です。



ORCA-Flash4.0とEM-CCDカメラとの視野の比較

2-2. 高透過率

W-VIEW GEMINIは、使用する1枚1枚のレンズを新たに設計・製作するところから見直しを始め、従来とは違うまったく新しいデザインで再設計されました。光学部品を最小限にし、さらに光学レンズ系を最適な設計にすることにより、蛍光イメージングで使用する様々な蛍光タンパク質や試薬の検出波長である400 nm～800 nmの広い波長範囲において高い透過率を実現し、より暗いサンプルの検出や、より弱い励起光での観察が可能になりました。



W-VIEW GEMINI の透過率 (バイパスモード時)

2-3. 色収差補正機構

レンズは、波長により異なる性質を持つ複数の光学ガラスを最適に組み合わせ設計されますが、像を劣化させる要因である色収差を完全に排除することはできません。それらの色収差のうち、波長によって像の倍率が異なるものを倍率色収差、光軸上のフォーカス位置が異なるものを軸上色収差と呼びます。

倍率色収差があると2つの波長の画像で倍率が異なり、像の大きさが異なることになります。W-VIEW GEMINIでは、倍率色収差を補正する補正レンズユニットを搭載していて、ZOOMノブを回すことで2波長の像の大きさを揃えることができます。補正レンズユニットにはFOCUSノブがついていますが、FOCUSノブは、本装置の内部で発生する軸上色収差を改善するためのものです。そのため、その効果は非常に限定的です。

また、ZOOMノブとFOCUSノブは、相補的な動きをしており完全に独立していません。そのためFOCUSノブを動かすと僅かですが像倍率が変わり、ZOOMノブを動かすと僅かですがフォーカス位置が変わります。調整の時にはFOCUSノブ、ZOOMノブの順で調整することをお勧めします。

2-4. 市販ダイクロイックミラーが使用可能

従来のW-View光学系 A8509では、市販サイズのダイクロイックミラーが使えないために、ダイクロイックミラーにコストがかかりました。しかし、W-VIEW GEMINIでは、市販のダイクロイックミラーを使用できるので、コスト面でメリットを受けることができます。ダイクロイックミラーは、より良い結像性能を得るためにイメージンググレードと呼ばれる高い平面度を持つものを使用することをお勧めしています。なお、ダイクロイックミラーおよびバンドパスフィルタは、W-VIEW GEMINIには付属されておきませんので、お客様にてご用意ください。

2-5. 高バランス

従来のW-View光学系 A8509では、入力Cマウントと出力Cマウントとが同軸上になくバランスの良くない構造でした。しかし、W-VIEW GEMINIでは、入力Cマウントと出力Cマウントとが同軸上に配置されているため正立顕微鏡に取り付けた場合でもバランスの良い安定性のある設置が可能になります。



正立顕微鏡でのORCA-Flash4.0との組み合わせ

2-6. コンパクトサイズ

従来のW-View光学系 A8509に比べ、全長が370 mmから259 mmと小さくなり、設置しやすくなりました。



W-VIEW GEMINIと従来品のサイズ比較

2-7. 有効エリア

W-VIEW GEMINIは、2波長に分割された2つの光画像が1台のカメラの異なる位置に結像されます。そのため、画像の有効サイズはそのカメラのおよそ半分にになります。W-VIEW GEMINIでは、幅が6.4 mmと3.9 mmのマスキュニットが準備されています。それぞれのマスキュニットのサイズとカメラの組み合わせは下記の通りです。

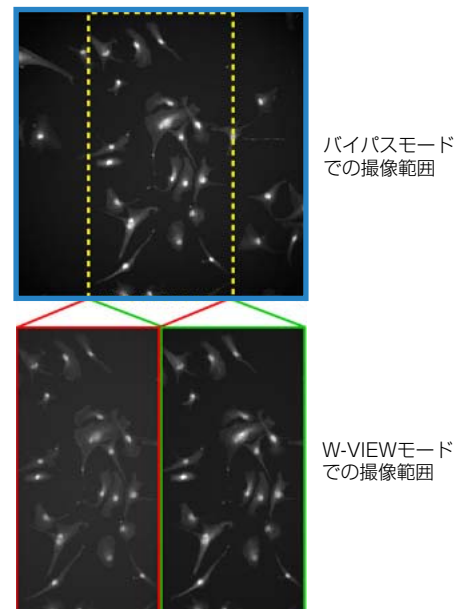
マスク ユニット (mm)	カメラ タイプ	カメラ 型名	撮像面 サイズ (mm)
6.4	sCMOS	ORCA-Flash4.0	13.3 × 13.3
	EM-CCD	ImagEM 1K ImagEM X2-1K	13.3 × 13.3
3.9	EM-CCD	ImagEM Enhanced ImagEM X2	8.19 × 8.19
	冷却CCD	ORCA-R2	8.67 × 6.60

2-8. バイパスモード (特許出願中)

W-VIEW GEMINIのような2分岐光学系を取り付けた顕微鏡を別の実験で使う場合に、顕微鏡から2分岐光学系やカメラを取り外す必要がありました。さらに元の実験の状態に戻すには、再度取付を行わなければならない、多大な労力を要していました。W-VIEW GEMINIでは、本体とカメラを顕微鏡に接続したままダイクロイックミラー等を取り外すだけで、カメラを顕微鏡のポートに直接接続したのと同様な状態に設定することができます。これをバイパスモードと呼びます。

バイパスモードは、マスキュニット、ダイクロイックミラー、バンドパスフィルタ、補正レンズの4部品を取り外し、モードノブを押し込むことで切り替えることができます。バイパスモードからW-VIEWモードへは、モードノブを引っ張り、取り外した4部品を取り付けることで切り替えることができます。W-VIEWモードに切り替えた場合に2波長画像の水平および垂直の位置が、モード切り替え前の位置に対して数画素のズレが発生することがありますが、ミラーで位置を再調整することで簡単に合わせ直すことができます。

カメラフォーマットの初期値は、マスキュニット6.4 mmに合わせて調整されています。マスキュニット3.9 mmに変えて使用する場合には、フォーマット調整治具を使用してカメラフォーマットノブを回して、移動量をカメラのサイズに合わせる必要があります。



2-9. 安定性

2波長計測において、2波長の画像の位置が移動せずに安定していることは重要なことです。W-VIEW GEMINIでは、入力と出力のCマウントを直線状に配置することで、正立顕微鏡でもバランス良く安定してご使用いただけます。

(1) 温度安定性

W-VIEW GEMINIをORCA-Flash4.0と共に正立顕微鏡に取り付け、そのすべてを環境試験機に入れ、周囲の温度を変化させた時に2波長画像間の位置ズレを確認しました。通常使われると想定した室温である22.5 °C～27.5 °Cの範囲で周囲温度を変化させた場合に、1画素以上の画像の位置ズレは確認できませんでした。

(2) 時間安定性

W-VIEW GEMINIをORCA-Flash4.0と共に正立顕微鏡および倒立顕微鏡に取り付け、室温25 °Cにおいて7時間経過後の2波長画像間の位置ズレを確認したところ、1画素以上の画像の位置ズレは確認できませんでした。

2-10. 外乱光の影響

W-VIEW GEMINIにORCA-Flash4.0を接続し蛍光灯下での外乱光の影響を計測したところ、1秒露光で1フォトン程度の漏れ込みがあることを確認しています。通常の蛍光観察にはそれほど影響を与えないと考えられますが、影響がある場合は室内の蛍光灯を消すなどの工夫をして、ご使用することをお勧めします。

3 ダイクロイックミラー等の特性

3-1. ダイクロイックミラーの特性

通常の顕微鏡においてダイクロイックミラーは、励起光の反射用に使用されます。しかし、W-VIEW GEMINIでは、画像の反射用に使用されます。画像の反射用として使用する場合には、波面を歪ませないために高い平面度が必要であり、そのためイメージンググレードのダイクロイックミラーを使用することを推奨しています。

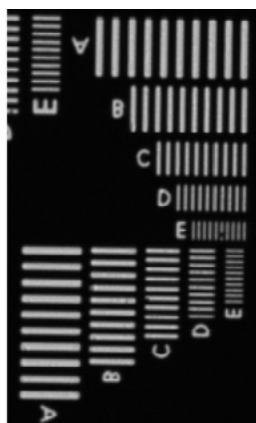
イメージンググレードのダイクロイックミラーは、例えばSemrock社のImaging Flatnessがあり、各組み合わせでの推奨例を下記に示します。使用可能なダイクロイックミラーのサイズは、P8「本体仕様」の「光学部品の指定寸法」を参照してください。

Semrock社の推奨例

CFP/YFP FRET Imaging	
Band-pass Emitter 1	FF01-483/32-25
Band-pass Emitter 2	FF01-542/27-25
Dichroic mirror	FF509-FDi01-25×36

GFP/DsRED Dual Band Imaging	
Band-pass Emitter 1	FF01-512/25-25
Band-pass Emitter 2	FF01-630/92-25
Dichroic mirror	FF560-FDi01-25×36

Cy3/Cy5 FRET Imaging	
Band-pass Emitter 1	FF01-593/40-25
Band-pass Emitter 2	FF01-676/29-25
Dichroic mirror	FF640-FDi01-25×36



イメージンググレードの反射像



スタンダードグレードの反射像

3-2. バンドパスフィルタの特性

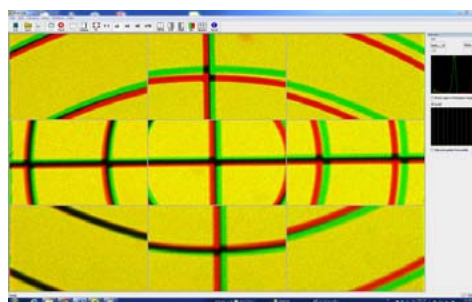
バンドパスフィルタは、決まった範囲の波長のみを選択して透過させる特性を持っています。その一方でそれ以外の波長の光はそこで反射および吸収されます。バンドパスフィルタは光軸の垂直面に正確に配置された場合に、バンドパスフィルタで反射された光が予期しない画像（ゴースト）を生み出すことがあります。W-VIEW GEMINIでは、ゴーストが発生しないようにバンドパスフィルタが配置されています。使用可能なバンドパスフィルタのサイズは、P8「本体仕様」の「光学部品の指定寸法」を参照してください。

3-3. NDフィルタの特性

NDフィルタは、各波長のどちらかの光量が強すぎる場合に強い方の光路に挿入して使用します。NDフィルタも光軸に対して垂直に配置した場合には予期しない画像（ゴースト）が発生させる可能性があります。W-VIEW GEMINIではそうしたゴーストが発生しないように配置されています。使用可能なNDフィルタのサイズは、P8「本体仕様」の「光学部品の指定寸法」を参照してください。

4 調整ソフトウェア

W-VIEW GEMINIでは、2波長の光画像が1台のカメラの異なる位置に結像されます。カメラで撮像された2波長画像は、波長毎に2分割され、重ね合わせて使用することになります。2波長画像の位置が合うように光学系の調整を簡便に行うためには、取得画像を2分割して2波長画像を重ね合わせ、さらに中央と周辺の拡大が同時にできるソフトウェアが必要になります。弊社カメラに付属する専用調整ソフトウェア W-VIEW Adjustment  は、それらを同時にリアルタイムで行うことができます。



5 用語の説明

● ダイクロイックミラー

入射した光を波長に応じて反射と透過に分光する機能をもった光学素子です。ガラス板に特殊コーティングを行うことでこのような機能を持たせています。形状として板状のものとプリズム状のものがあります。

● イメージンググレード

イメージスプリッティング光学系では、ダイクロイックミラーでの反射光も画像として結像しますので、反射面の精度も結像性能に大きな影響を与えます。イメージンググレードと呼ばれる反射面の平面度の高いダイクロイックミラーを使用することをお勧めしています。

● バンドパスフィルタ

入射した光の特定の波長のみを透過する機能をもった光学素子です。ガラス板に特殊なコーティングを行うことでこのような機能を持たせています。副透過帯と言われる2倍の波長を透過させる性質がありますので、副透過帯の波長までしっかり遮断された透過特性のものを選ぶ必要があります。

● 分光透過率

光学系に入射した光に対して出射する光の透過率を各波長で測定したものです。この値が大きいほど光が有効に利用されることになります。この値は光学系の内部で使われている個々の部品の透過率、反射率などで決まります。

● 軸上色収差

レンズは、色（波長）により屈折率が異なるため、色により光軸方向のフォーカス位置と像倍率が変わり、それを色収差と呼びます。色収差のうちフォーカス位置が変わるものを軸上色収差と呼び、この軸上色収差は画像の分解能に影響を与えます。

● 倍率色収差

色収差のうち像の倍率（大きさ）が変わるものを倍率色収差と呼びます。倍率色収差があると、2色の画像を重ね合わせた時にズレが発生し、解析結果に影響を与えます。

● リレー倍率

光学系へ入射する光の像の大きさに対して、出射する光の像の大きさの比のことを言います。W-VIEW GEMINIでは、リレー倍率が1.0倍になるように設計されています。

● バイパスモード

光学系を顕微鏡に取り付けたままダイクロイックミラーおよびバンドパスフィルタ等を光路から外して、顕微鏡からの出力光画像をそのままカメラに結像させるモードをバイパスモードと呼びます。一方、通常モードをW-VIEWモードと呼びます。

● 有効エリア

W-VIEW光学系は、2波長の光画像を1台のカメラの異なる位置に結像させます。2波長の光画像の縁が重ならないように有効エリアをマスクユニットのサイズで制限して使用します。マスクユニットのサイズは、カメラの画像フォーマットサイズから選択します。

● 分解能

光学系を評価する一つの項目です。この分解能が高いほどクリアな画像が得られます。

● 像面湾曲

レンズを使った撮像において、画像の中央位置にピントを合わせると周辺のピントが甘くなり、周辺にピントを合わせると中央のピントが甘くなるということが発生することがあります。これは結像面が収差によって平面上に存在せず湾曲した面で結像されていることが原因で、これを像面湾曲と呼びます。

● 歪曲収差（歪）

倍率色収差とは別に、結像平面上の位置により像の倍率の違いが現れる収差があり、これを歪曲収差と呼びます。例えば中央に対して周辺の倍率が小さいと樽型歪、中央に対して周辺の倍率が大きいと糸巻型歪となります。W-VIEW GEMINIでは、歪曲収差が小さくなるように設計されていますが、若干の非対象な歪曲収差が残っています。この歪曲収差による画素ズレを補正するには、ソフトウェアによる補正が必要になります。

● シェーディング

画像の位置によって輝度が違うことをシェーディングといいます。シェーディングの要因にはいろいろあり、顕微鏡光学系とW-VIEW GEMINIの光学系とのマッチングに起因するものやカメラに起因するものなどが考えられます。

6 本体仕様

品名	W-VIEW GEMINI イメージスプリッティング光学系
型名	A12801-01
構造	CマウントーCマウント直線構造
入力マウント	Cマウント (メス)
出力マウント	Cマウント (オス)
リレー倍率	1.0 倍
視野 ①	13 mm×6.4 mm (W-VIEWモード時) 13 mm×13 mm (バイパスモード時)
モード	W-VIEWモード/バイパスモード ②
透過波長範囲 ③	400 nm ~ 800 nm
透過率 (Typ.) ④	97 %
ダイクロイックミラー ⑤⑥	市販のダイクロイックミラーが使用可能
バンドパスフィルタ ⑤⑥	市販のフィルタが使用可能
NDフィルタ ⑤⑥	市販のNDフィルタが使用可能
色収差補正機構	収差補正レンズユニットによる ⑦⑧⑨
動作周囲温度	0 ~ +40 °C
保存周囲温度	-10 ~ +50 °C
動作周囲湿度	70 %以下 (ただし結露しないこと)

- ① リレーレンズや中間変倍レンズと共に使用した場合には、ケラレやシェーディングの低下、像面湾曲などの結像性能の低下が発生する場合があります。
 ② ダイクロイックミラー等を光路から外して、顕微鏡からの出力光画像がそのままカメラに結像するモードです。
 ③ バイパスモードでの値になります。
 ④ バイパスモード時におけるピーク波長での代表値になります。
 ⑤ ダイクロイックミラー・バンドパスフィルタ・NDフィルタは、本体に付属されませんので、別途購入が必要です。ご使用には結像特性の良いイメージンググレードと呼ばれる反射側の平面度の高いものをお使いください。ダイクロイックホルダ (空) とフィルタホルダ (空) は1セット付属されています。セットの追加はA12802-01の型名で購入が可能です。
 ⑥ 使用可能なサイズは「光学部品の指定寸法」を参照してください。
 ⑦ 色収差による倍率の違いを改善するものです。歪曲収差 (歪) による2波長の位置の違いは改善できません。
 ⑧ FOCUSノブは本装置の内部で発生する色収差を改善するために設計されたもので、その効果は非常に限定的です。
 ⑨ 2焦点面イメージングはできません。

付属品

マスクユニット6.4 mm、マスクユニット3.9 mm、補正レンズユニット
 ダイクロイックホルダ (空)、フィルタホルダ (空)
 マスクユニットカバー、補正レンズカバー、ダイクロイックカバー
 フィルタカバー、Cマウントキャップ (オス)、Cマウントキャップ (メス)
 六角ドライバ (2.5 mm)、六角ドライバ (1.5 mm)
 同心円チャート、フィルタ治具、フォーマット調整治具
 付属品収納ケース、取扱説明書 (CD)、ご使用前に (冊子)

※ダイクロイックミラーおよびバンドパスフィルタ、NDフィルタはW-VIEW GEMINIに付属されませんので、お客様にてご用意していただく必要があります。

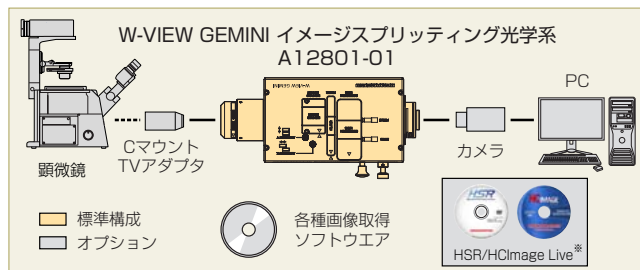


光学部品の指定寸法

	寸法(mm) / 公差(mm)	厚さ(mm)
ダイクロイックミラー	25.2×35.6	±0.1
バンドパスフィルタ	φ25.4	+0/-0.6
NDフィルタ		
		最大 2.0
		最大 6.0*

※バンドパスフィルタとNDフィルタの厚みを合わせた値です。

7 システム構成例



※HSR (High Speed Recording)・HCI Image Live は、カメラセットに標準で付属する画像取得ソフトウェアです。

オプション

型名	品名
A12802-01	A12801-01用ホルダセット *1
A12964-01	A12801-01用アジャスタ *2

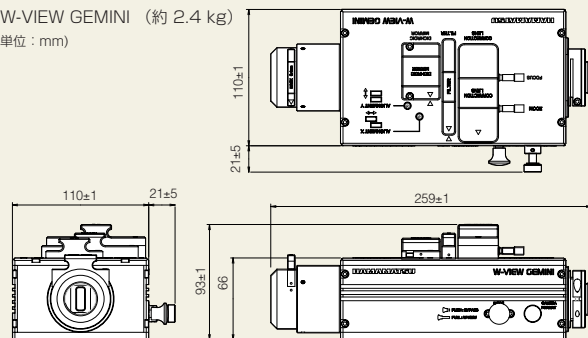
*1 A12802-01はダイクロイックホルダ (空) とフィルタホルダ (空) の組み合わせになります。

*2 A12964-01は、高さを調整するアジャスタです。W-VIEW GEMINIの底面と床との隙間が以下の場合に使用できます (右下写真は縦置きの場合です)。
 本体縦置: 10 mm~36 mm、本体横置: 32 mm~59 mm



8 外形寸法図

■ W-VIEW GEMINI (約 2.4 kg)
 (単位: mm)



★ImagEM, ORCAは、浜松ホトニクス (株) の登録商標です。

★HCIMAGEは、PHOTONICS MANAGEMENT CORP. の登録商標です。

※カタログに記載の数値は代表値を示すものです。 ※記載商品名、ソフト名等は該当商品製造会社の商標または登録商標です。

※本カタログの記載内容は2014年4月現在のものです。本内容は改良のため予告なく変更する場合があります。

浜松ホトニクス株式会社

www.hamamatsu.com

□ システム営業推進部 〒431-3196 浜松市東区常光町812
 TEL (053)431-0150 FAX (053)433-8031
 E-Mail sales@sys.hpk.co.jp

□ 仙台営業所 TEL (022)267-0121 FAX (022)267-0135

□ 筑波営業所 TEL (029)848-5080 FAX (029)855-1135

□ 東京営業所 TEL (03)3436-0491 FAX (03)3433-6997

□ 中部営業所 TEL (053)459-1112 FAX (053)459-1114

□ 大阪営業所 TEL (06)6271-0441 FAX (06)6271-0450

□ 西日本営業所 TEL (092)482-0390 FAX (092)482-0550

Cat. No. SBIS0101J01
 APR/2014 HPK